Ueber Inulin

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der Philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

von

Walter G. Hensel

aus Philadelphia, Pennsylvania, U. S. A.

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Mai 1932.
Tag der Promotion: 25. Juli 1932.

Druck von Gebrüder Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

331

Referenten: Prof. Dr. Hans Pringsheim,

Prof. Dr. Wilhelm Schlenk.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Theoretischer Teil.

I.

Das Polysaccharid Inulin, welches wenigstens der Haupsache nach aus Fruktose-Molekülen aufgebaut ist, unterscheidet sich von der Mehrzahl der natürlichen hochmolekularen Polysaccharide, auch von solchen, welche wie es selber als Reservesubstrat für die Pflanzen dienen, wie z. B. die Stärke, durch seine vergleichsweise größere Unbeständigkeit. Diese kommt dadurch zum Ausdruck, daß das Inulin verhältnismäßig leicht durch Säuren hydrolysiert werden kann, was gewiß auf die in ihm enthaltenen labilen butylenoxydischen Fruktose-Reste zurückzuführen ist, welche es mit dem Rohrzucker gemeinsam hat.

Als weitere Eigentümlichkeit sei angeführt, daß das Inulin nicht zu Gallerten verquillt, es bildet im Gegenteil nicht einmal so viscose Lösungen, daß sich eine Messung ihrer Viscosität mit den üblichen Hilfsmitteln des Laboratoriums durchführen läßt. Die Ursache hierfür ist, daß dieses Polysaccharid in der Natur, ohne mit Elektrolyten beladen zu sein, vorkommt, daß also seine Aschenbestandteile nicht chemische Konstituenten seines Moleküls, sondern nur Beimengungen sind.

Diese Andeutungen mögen genügen, um das Inulin von den meist untersuchten komplexen Polysacchariden abzugrenzen und es für gewisse experimentelle Forschungen sehr geeignet erscheinen zu lassen, die ich im Nachstehenden beschreiben will.

a) Hierbei kommen zuerst Versuche in Frage, welche die Dispergierbarkeit des Inulins beweisen sollen. Gerade an diesem Polysaccharid läßt sich zeigen, daß sein Verteilungszustand selbst im Wasser gewissen Schwankungen ausgesetzt ist: ein lang gelagertes stark gealtertes Inulin gibt in Wasser Lösungen, deren mögliche Gefrierpunktsdepressionen bei der Kryoskopie weit außerhalb der Fehlergrenzen liegen; ein aus Wasser frisch ausgefälltes

Inulin zeigt jedoch unter denselben Verhältnissen in Wasser einen Verteilungszustand, der einem 7 bis 8 oder auch noch etwas höher gelagertem Fruktose-Anhydrid entspricht.

In früheren Untersuchungen haben Pringsheim, Reilly und Donovan gezeigt[1]), daß die Dispergierung des Inulins in besonders guter Weise in geschmolzenem Acetamid bei 80° und schon bei Zimmertemperatur in flüssigem Formamid gelingt. Inzwischen hat Freudenberg[2]) auf gewisse Fehlerquellen bei der kryoskopischen Bestimmung hingewiesen, welche besonders für Stoffe zu beachten sind, die wir, wie die natürlichen Polysaccharide im allgemeinen und das Inulin im speziellen zu den hochmolekularen zählen. Die Gefahr der Bildung von Molekülschwärmen oder der Solvatation der gelösten Substanz mit dem Lösungsmittel muß hier beachtet werden. Ein gewisses Kriterium für die Trübung der Resultate bei kryoskopischen Bestimmungen wäre die Beobachtung, daß der Anstieg der Temperatur vom Punkte der Unterkühlung bis zum höchsten ablesbaren Thermometerstande in der Lösung einen wesentlich längeren Zeitraum durchschreitet als im Lösungsmittel.

Unter Beachtung dieses Umstandes habe ich die Molekulargewichtsbestimmung des Inulins in geschmolzenem Acetamid bei 80° und in flüssigem Formamid bei ca. 1° erneut einer Prüfung unterzogen. Ich wandte hierbei z. B. ein nach der zuverlässigsten Methode von Irvine und Steele[3]) besonders gereinigtes Inulin von sehr geringem Aschengehalt an und achtete auf ganz besonders sorgfältige Trocknung. Die Versuche, deren Einzelheiten im experimentellen Teile angegeben werden, gaben in beiden Lösungsmitteln im Acetamid und im Formamid Werte, die gut mit dem Verteilungszustand eines tetrameren Fruktose-Anhydrids übereinstimmten.

Im Jahre 1928 machten H. Pringsheim und O. Gerngroß[4]) die eigentümliche Beobachtung, daß desaggregierte komplexe Naturstoffe, z. B. Polysaccharide, denen man künstlich eine Teilchen-Verkleinerung aufgezwungen hat, im ultravioletten Lichte einer Analysen-Quarz-Lampe stärker fluoreszieren als die Ausgangs-

1) H. Pringsheim, J. Reilly u. P. P. Donovan, Ber. **62**, 2378, 1929.
2) K. Freudenberg, Ber. **62**, 3078, 1929.
3) J. C. Irvine u. Steele, Journ. chem. Soc. London **117**, 1474, 1920.
4) H. Pringsheim u. Gerngroß, Ber. **61**, 2009, 1928.

stoffe. Sie teilten mit, daß ein von Pringsheim und Reilly[5]) durch Kochen von Inulin-Acetat in chloroformiger Lösung mit Benzolsulfosäure abgebautes Inulin, ein Inulan von gleicher spezifischer Drehung wie das Ursprungspräparat, diese Erscheinung in ausgesprochener Weise gezeigt hätte. Bei dem Versuche, diese Beobachtung zu reproduzieren, konnte ich zuerst keinen Unterschied in dem Fluoreszenzgrade zwischen dem von Kahlbaum bezogenen, immerhin schon recht reinen Inulin und seinem Desaggregationsprodukt beobachten. Als ich jedoch das Inulin einem Vorschlage von Schlubach und Elsner[6]) entsprechend einer Reinigung durch Kaltextraktion mit destilliertem Wasser unterzog, und es so von Aschebestandteilen befreite, erhielt ich ein schwach fluoreszierendes Inulin. (Das aschefreie Inulan fluoreszierte im Vergleich dazu wesentlich stärker.)

b) Das vor 10 Jahren[7]) durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin zuerst dargestellte Inulin-Acetat ließ sich durch Lösen in einer kalten Mischung von 3 Tln. Methylalkohol und 1 Tl. Eisessig reinigen; es fällt hieraus als durchscheinende weiße Masse vom Zers.-Pkt. 96° an. Bergmann[8]) hat später mehrfaches Umlösen aus Methylalkohol in der Hitze vorgezogen, doch blieb der Zers.-Pkt. hierbei anfangs niedriger. Als diese Operation deshalb vielfach hintereinander bis zu 13 Malen vorgenommen wurde, machte die Substanz einen kristallinischen Eindruck. Schneller läßt sich dieser Zustand erreichen, wenn zuerst eine Reinigungs-Operation vorgenommen und dann aus heißem Methylalkohol umkristallisiert wird. Trotz der schon früher erwiesenen analogen Kristallstruktur des Inulins und des verseiften Inulin-Acetates mittels Röntgen-Spektroskopie[9]) durch R. O. Herzog wäre ich nicht imstande gewesen, ein endgiltiges Urteil über die Kristalle des Inulin-Acetates zu fällen. Herr Dr. Seifert[10]) vom Mineralog.-petro-

5) H. Pringsheim u. J. Reilly, Ber. 61, 2018, 1928.
6) H. Schlubach u. H. Elsner, Ber. 62, 1499, 1929.
7) H. Pringsheim u. A. Aronowsky, Ber. 54, 1281, 1921.
8) A. 449, 302, 1926.
9) H. Pringsheim u. A. Aronowsky, B. 54, 1281, 1921.
10) Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Seifert sei für seine gütige Mitwirkung hiermit nochmals gedankt.

graph. Institut der Universität Berlin, der eine Prüfung vornahm, schreibt darüber das Folgende:

„Die mir übergebenen Objekte erscheinen unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung als kugel-ähnliche, sphärolithische Gebilde (etwa wie bei K. Heß[11]), Tafel VII, Fig. 78, aber mit deutlich gerunzelter Oberfläche). Bei stärkerer Vergrößerung (200 fach und mehr) erweisen sie sich als Aggregate kleinster spitznadliger Kriställchen nach Art von Sphärolithen, derart, daß morgenstern-ähnliche Gebilde herauskommen; oft erscheint eine Aggregation nach einer Ebene bevorzugt, so daß bei schwacher Vergrößerung die Kügelchen abgeplattet, etwa wie ein See-Igel, erscheinen, und wenn dann noch die Anzahl der einzelnen Nadeln gering ist, wie es vorkommt, entstehen etwa 5-, 6- und mehrstrahlige „Sterne", so erinnernd an die Figur 80, Tafel VII, bei K. Heß. Die einzelne Nadel zeigt anscheinend Auslöschung parallel und senkrecht zur Längsrichtung bei optisch positivem Charakter derselben. Der maximale Durchmesser der kugel-ähnlichen Aggregate beträgt etwa 0,025 mm. Individualisierte Einzelkristalle wurden noch nicht beobachtet."

Dieses Ergebnis ermutigt zu weiteren Versuchen, aus anderen Lösungsmitteln schöner ausgebildete Kristalle zu gewinnen.

In einer Ende 1929 erschienenen Arbeit über Cellulose hat Freudenberg[12]) die Messungen der Molekulargröße des Inulin-Acetates in Eisessig, welche von Bergmann[13]) und Pringsheim[14]) der $2 \times C_6$-Stufe entsprechend gefunden wurden, als revisionsbedürftig bezeichnet und gewisse Forderungen zu ihrer Sicherung erhoben, die ich für sehr beachtenswert halte. Die vornehmlichste ist, daß die Dauer des Temperatur-Anstieges vom Momente des Aufhebens der Unterkühlung bis zum Erreichen der Höchsttemperatur im Lösungsmittel und in der Lösung der Substanz annähernd gleich groß ist. Unter Beachtung dieser Kontrolle, welche die gleichmäßige Kristallbildung wie den molekular-dispersen Lösungszustand verbürgt, fand ich bei gleicher Unterkühlung und

11) K. Hess: Die Chemie der Cellulose, Leipzig 1928.
12) Ber. 62, 3078 Anmerk., 3082, 1929.
13) A. 449, 302, 1926.
14) A. 462, 231, 1928.

Konstanz der Kühlbad-Temperatur das Molekulargewicht des Inulin-Acetates in Eisessig bei genügender Verdünnung wieder einem Difruktose-anhydrid-acetat entsprechend.

II.

a) Die Annahme, daß sich das Inulin nicht nur der Hauptsache nach, sondern ausschließlich aus Fruktose-Resten zusammensetzt, ist schon von Tanret[15]) angezweifelt worden, der behauptete, daß im Molekül des Inulins auf 12 Fruktose-Reste ein Glukose-Rest käme. Nun ist jedenfalls eine sehr auffallende Tatsache zu verzeichnen, nämlich die, daß Inulin-Präparate verschiedenen Ursprungs eine recht wechselnde Drehung zeigen: so sind spezifische Drehungen zwischen -31^0 und -40^0 wahrgenommen worden. Gewisse Reinigungsverfahren, z. B. das von mir genannte nach Irvine und Steele, gestatten es, die Linksdrehung des Inulins zu verstärken; ja Tanret hat eine Methode zur Abtrennung der Inulin-Begleitstoffe angegeben, nach der er das höchstdrehende Inulin mit -40^0 Drehwert erhalten haben will. Im allgemeinen jedoch läßt sich der Drehwert der natürlichen Ausgangsstoffe durch derartige Reinigungsverfahren nur in gewissen Grenzen verändern. So drehte z. B. das von Kahlbaum gelieferte Inulin $-34{,}5^0$ und nach der von mir vorgenommenen doch immerhin schon gründlichen, drei Wochen erfordernden Irvine'schen Reinigung betrug der Drehwert $-35{,}8^0$. Im allgemeinen gewinnt man beim Studium der Literatur den Eindruck, daß in der Natur tatsächlich Inuline mit verschiedenem Drehwert vorkommen, welche wenigstens der Hauptsache nach, selbst durch umständliche Reinigungsverfahren, nicht auf ein Inulin einer definitiv begrenzten Drehung zurückzuführen sind. Vielleicht läßt sich aus allen ein kleiner Anteil eines Inulins von verhältnismäßig hohem Drehwert herausschälen. Jedenfalls ist aber in diesen Präparaten wechselnder Drehung dieser Bestandteil nicht im gleichen Mengenverhältnis vorhanden und ebenso wenig kann man die Annahme machen, daß die abtrennbaren niedriger drehenden und in Wasser leichter löslichen Anteile als artfremde Verunreinigungen und garnicht mehr als Inulin zu bezeichnen sind.

15) Tanret, Bull. Soc. Chim. [3], 9, 227, 1893.

Die größte Wahrscheinlichkeit ist demnach die, daß es sich bei dem Inulin um ein Gemisch verschieden polymerer Kohlenhydrate handelt. In einer wichtigen Abhandlung „Ueber die Natur des Inulins" haben Schlubach und Elsner[16]) auf diesen Umstand hingewiesen und das Inulin als ein Gemisch hochmolekularer „Polylävane" bezeichnet. Sie stellten bei der Säurehydrolyse des Inulins die Bildung geringer Mengen von Glukose fest, und zwar nicht nur auf Grund indirekter Bestimmungsmethoden wie z. B. durch Polarisation oder Differenz-Titration, sondern, was besonders wichtig ist, durch Isolierung der Glukose in Gestalt ihres kristallisierten Acetates. Auch in Amerika haben R. F. Jackson und S. M. Goergen[17]) das Vorkommen von Glukose neben Fruktose in den Inulin-Hydrolysaten nachgewiesen.

Schlubach ist jedoch in seinen Schlußfolgerungen sehr vorsichtig geblieben. Er ließ die Frage offen, ob nicht vielleicht aus den labilen Fruktose-Bestandteilen des Inulins sich bei der Hydrolyse kleine Mengen Glukose durch Umlagerung bilden könnten. Zu dieser Zurückhaltung wurde er ganz besonders durch die Angabe von Bourquelot und Bridel[18]) veranlaßt, die festgestellt haben wollen, daß bei der enzymatischen Hydrolyse des Inulins keine Glukose auftritt.

Gestützt auf die Erfahrungen, welche Pringsheim[19]) über die Inulinase aus Schimmelpilzen gesammelt hat, habe ich es zuerst unternommen, die Angaben der französischen Forscher nachzuprüfen. Mir stand dazu die zurzeit der Bourquelot'schen Untersuchungen noch nicht bekannte Beobachtung von Willstaetter zur Verfügung, daß die Glukose sich mit alkalischer Jodlösung in stöchiometrische Verhältnisse zur Glukonsäure umsetzt und so durch den Jodverbrauch titriert werden kann, während die Fruktose vom Jod in alkalischer Lösung garnicht oder nur in geringem Maße angegriffen wird. Titriert man deshalb z. B. ein Inulin-Hydrolysat

16) Schlubach u. Elsner, Ber. **62**, 1493, 1929.
17) Bureau of Stand. Res. Journ. **3**, 29, 1929.
18) Bourquelot u. Bridel, Compt. rend. Acad. Sciences **172**, 946, 1921.
19) H. Pringsheim u. G. Kohn, Zeitschr. physiol. Chem. **133**, 80, 1924, H. Pringsheim u. R. Perewosky, Zeitschr. physiol. Chemie **153**, 138, 1926.

einerseits mit Fehling'scher Lösung nach der genauen Methode von Bertrand und andererseits in der von Willstaetter und Schudel angegebenen Weise mit Jod, so läßt sich selbst ein geringer Glukose-Gehalt der Fruktose-Lösung mit verhältnismäßiger Genauigkeit feststellen.

Um jedoch hierbei zu zuverlässigen Ergebnissen zu gelangen, war es notwendig, die Fehlergrenzen dieser Titrationsmethode eingehend zu ermitteln und besonders festzustellen, inwieweit die Fruktose für sich allein, wie auch in Gegenwart wesentlich größerer Glukose-Mengen mit Jod reagiert. Die Vorversuche, welche ich zu diesem Zwecke ausführte, beschreibe ich im experimentellen Teil. Ihr Ergebnis war, daß unter den in meinen Fermentversuchen zu erwartenden Konzentrations-Bedingungen ein Angriff des Jodes auf die Fruktose in dem Maße erfolgt, daß in ihr im Durchschnitt 2,8% Glukose vorgetäuscht wird. Diesen Titrationsfehler nenne ich den Jodfehler der Fruktose.

In meinen ersten Versuchen züchtete ich mir die Mycelien, des Aspergillus niger, entsprechend den Erfahrungen von Pringsheim in Reinkultur auf einer Rohrzucker-Mineralsalz-Nährlösung bei Zimmertemperatur, wobei nach den früheren Erfahrungen etwa nach drei Wochen ein Optimum des Inulinase-Gehaltes in den Pilzen zu erwarten war. Ich zerrieb dann das gut gewaschene Pilzmycel einer ganzen Serie von Erlenmeyer-Kolben fein mit Sand, extrahierte es wieder entsprechend den früheren Erfahrungen beim Optimum der Acidität der Pilz-Inulinase von p_H 3,8 mit dem entsprechenden Puffer, entfernte reduzierende Bestandteile durch Dialyse und brachte das so gewonnene Ferment in verschiedenen Versuchen auf Inulin-Lösungen zum Ansatz. Hierbei wurde auf alle nötigen Einzelheiten, wie geeignete Pufferung, mögliche Spaltung des Inulins durch die Acidität der Lösung bei Bruttemperatur ohne Fermentmitwirkung und andere, im Versuchsteil verzeichnete Einzelheiten Rücksicht genommen. So gelang es mir, mit dem wirksamen Ferment das Inulin in einem Maße zu spalten, das mir die Differenz-Titration des Hydrolysates gestattete. Das endliche Ergebnis dieser Versuche war eine Bestätigung der Angaben von Bourquelot und Bridel, gewiß in wesentlich verfeinerter Form: Im Inulinase-Hydrolysate des Inulins ließ sich nur Fruktose und keine Glukose nachweisen, während ich andererseits die Er-

fahrung von Schlubach, daß bei der Säurehydrolyse von Inulin mindestens 5% Glukose gebildet werden, auf dem geschilderten titrimetrischen Wege, wie ich glaube, mit ziemlicher Genauigkeit bestätigen konnte. Ein definitiver Schluß, daß danach die Glukose bei der Säure-Hydrolyse durch Isomerisation aus der Fruktose entsteht und keinen primären Konstituenten des Inulins bildet, kann jedoch aus meinen Versuchen noch nicht mit Sicherheit abgeleitet werden, denn die Ferment-Hydrolyse schritt nur bis zur ca. 90%igen Spaltung des Inulins fort. Weiter ist auch Bourquelot, wie man aus seinen Zahlen errechnen kann, in der Fermentspaltung nicht vorgeschritten. Es ist also nicht auszuschließen, daß die Aldose im ungespaltenen Teil zurückbleibt, solange keine quantitative Spaltung, auf fermentativem Wege durchführbar ist. Hier schlossen meine weiteren Versuche an.

b) In interessanten Versuchen haben Jackson und Goergen[20]) gezeigt, daß auch bei der Säure-Hydrolyse des Inulins selbst bei verhältnismäßig starken Säurekonzentrationen ein ungespaltener Rest von 5,2% zurückbleibt, aus welchem diese Forscher zuerst ein schön kristallisierendes Acetat eines Di-Fruktose-Anhydrids isolierten. Später geben sie noch an, daß sie daneben noch zwei andere, bisher noch wenig genau beschriebene acetylierte Di-Fruktose-Anhydride gewonnen haben.

Zwischen den Beobachtungen Jacksons und den meinen herrschte somit eine verlockende Uebereinstimmung. Sowohl bei der Säure- wie bei der Ferment-Hydrolyse blieb ein ungespaltener Rest, der auch in quantitativer Beziehung in meinen weiteren Fermentversuchen den Säure-Hydrolyse-Versuchen Jacksons ungefähr entsprach. Diese Beobachtung mußte selbstverständlich sehr dazu auffordern, im refraktären Enzym-Hydrolysat des Inulins nach den schön kristallisierenden Di-Fruktose-Anhydriden des amerikanischen Forschers zu suchen.

Die Erreichung des mir gesteckten Zieles erschien ziemlich schwierig, weil nach allen bisherigen Erfahrungen Inulinasen großer Wirkungskraft nicht zugänglich waren, deren ich aber bedurfte, um nicht nur auf titrimetrischem Wege in Hydrolysaten auf Glu-

20) Jackson u. Goergen, Bureau of Stand. Res. Journ. 3, 27, 1929; 5, 1151, 1930.

kose zu fahnden, sondern in dem immerhin kleinen Rückstand der Ferment-Hydrolyse auf chemischem Wege nach kristallisierenden Inulin-Abbauprodukten zu suchen.

Die von mir mit dem Pilzferment gesammelten Erfahrungen schienen zuerst in dieser Hinsicht wenig ermutigend. Es lag daher nahe, zuerst einmal nach Inulin-spaltenden Fermenten da in der Natur zu suchen, wo man sie gewöhnlich zu finden pflegt, nämlich in den Pflanzenorganen, in denen sich das Inulin ansammelt und denen es nach der Aufspaltung durch die begleitenden Fermente der Pflanzen für ihre Stoffwechsel-Bedürfnisse zur Verfügung gestellt wird. Dementsprechend suchte ich zuerst Anschluß bei den Versuchen von Green[21]), der die Isolierung einer Inulinase aus Topinamburknollen beschrieben hat. Die Suche nach diesen Fermenten an dieser Fundstelle war jedoch bei Pringsheim wie auch bei Boselli[22]) wenig ermutigend; ich hoffte jedoch zu besseren Resultaten zu gelangen und zwar dadurch, daß ich entsprechend den Anordnungen von Green die Inulin-haltigen Dahlienknollen erst verschieden lange austreiben ließ in Erwartung, daß hierbei eine Mobilisierung des Fermentes erfolgen würde. Green gibt an, daß Topinamburknollen, welche einen Trieb von 6 Zoll zeigen, am fermentreichsten sind.

Für meine Versuche eigneten sich besser Dahlienknollen, welche ich von der Firma Späth in mit Erde gefüllten Töpfen bezog. Der wissenschaftliche Berater dieser Firma, Herr Professor Werner Magnus, unterstützte mich in der Auswahl der besonderen Dahlienarten mit seinem Rate, wofür ich ihm sehr zu Dank verpflichtet bin. Durch die Güte des Herrn Professor Miehe, dem ich gleichfalls meinen Dank ausspreche, war ich in der Lage, die Dahlien im Warmhaus des botanischen Institutes der Berliner Landwirtschaftlichen Hochschule zum Treiben zu bringen. Die Versuche wurden während der Wintermonate ausgeführt, so daß in 2 Wochen ein Trieb von 4 bis 8 Zoll Länge erreicht wurde. In weiteren 2 Wochen war die Trieblänge 12 bis 15 Zoll. Unter Beachtung aller im experimentellen Teil verzeichneten Fehlerquellen beobachtete ich, daß auch bei der Dahlie nach 2 Wochen die größte

21) Green, Annals of Botany 1, 223, 1887.
22) Boselli, Ann. Inst. Pasteur 25, 695, 1911.

Wirksamkeit des mobilisierten Fermentes erreicht wurde, welche sich bei längerem Wachstum nicht steigerte, sondern geringer wurde. Selbst unter den optimalen Bedingungen war die Fermentwirkung schwach, die Hauptschwierigkeit bestand aber darin, daß es bisher keine Methode gibt, um die Dahlien-Inulinase von den in den Knollen noch verbleibenden Inulin-Anteilen zu befreien. Die Folge davon ist, daß man quantitative Versuche mit einem derartigen schon mit dem Substrat beladenen Ferment-Extrakt überhaupt garnicht ausführen kann. Dieser Umstand zwang mich trotz der allgemeinen Bestätigung der Erfahrung von Green diese Versuchsrichtung aufzugeben.

Aus diesem Grunde kam ich wieder auf das Pilz-Ferment zurück. Um einen wesentlich größeren Maßstab zu erreichen, änderte ich die Versuchsbedingungen in zweifacher Weise. Einmal züchtete ich den Pilz bei höherer Temperatur, wobei sich 30° am geeignetsten erwies, und dann legte ich Massenkulturen an. Zu diesem Zwecke züchtete ich zuerst wieder in Erlenmeyer-Kolben auf steriler Nährlösung Stammkulturen heran, welche ich im Zustande günstigen Wachstums auf der Oberfläche von Nährlösungen verteilte, die ich zur Massenkultur in flachen Schalen ausgegossen hatte. So füllte ich z. B. 10 Liter Nährlösung in 10 Schalen in einer Höhe von 3 cm ein. Hierbei waren die Wachstumsbedingungen besonders günstig: geeignete Temperatur, ungehinderter Luftzutritt, ermöglichten es den Pilzen, sich auf der Oberfläche der Flüssigkeitsschichten so schnell auszubreiten, daß die Infektionsgefahr auf ein minimales Maß zurückgedrängt wurde. Im übrigen hätte sie mir wenig geschadet, da ich ja nach einem kristallisierten Inulin-Abbauprodukt suchte, und hier keine Untersuchungen über spezifische Fermentwirkungen vorhatte.

In der Tat war die Entwicklung des Pilzes eine recht schnelle. Schon nach zwei bis drei Tagen war die Nährlösung mit einer dünnen Pilzschicht bedeckt, und bereits nach fünf Tagen war ich in der Lage, eine dicke Mycelhaut, die sich eben mit schwarzen Sporen bedeckt hatte, zu ernten. Um das Pilzmycel von der anhaftenden Lösung zu befreien, wusch ich es zuerst im Wasser, preßte dann bei 250 Atm., schwemmte mit Wasser an und preßte noch einmal hydraulisch. Dann verrieb ich es wie vorher fein mit Sand und extrahierte in der Kälte mit 200—240 ccm Pufferlösung

während zwei bis drei Tagen. Das Filtrat wurde im gegebenen Falle nur 1 Tag dialysiert; ich verzichtete auf eine völlige Entfernung der reduzierenden Bestandteile, um nicht zu viel Ferment zu verlieren, da ja bei der nachherigen Aufarbeitung des Hydrolysates durch Vergärung mit Hefe etwa aus dem Mycel stammende geringe Zuckermengen doch mit weggegoren werden würden.

Mit einer derartigen Fermentlösung aus 10 Litern Nährlösung kann man 15 bis 22 g, vielleicht sogar mehr Inulin schon in 24 Stunden maximal abbauen. Bei weiterer Einwirkung schritt die Fermenthydrolyse nicht fort, so daß ich berechtigt war, sie zu unterbrechen, zum Zwecke der Isolierung des Enzym-festen Inulinrückstandes. Ich stellte fest, daß ich wiederum, wie in den kleinen Versuchen, 90% des Inulins als reduzierenden Zucker erfassen konnte. Der gesuchte Rückstand war in 1 500 ccm meines Fermentansatzes enthalten, die noch 70 ccm Zitrat-Salzsäure-Puffer enthielten. Um die Salzsäure und die Hauptmenge der Zitronensäure zu entfernen, verdampfte ich zuerst im Vakuum auf 150 ccm, vergor dann mit Hefe und schüttelte darauf die von der Hefe befreite Lösung mit Silbercarbonat. Das mit Essigsäure neutralisierte Filtrat wurde dann mit Schwefelwasserstoff entsilbert und schließlich zum Sirup eingedampft. Diesen Sirup verarbeitete ich in der früher von Jackson angegebenen Weise auf das Acetat.

Um mich auf die Gewinnung des Acetates von Jackson vorzubereiten, machte ich zuerst seine Versuche, die zur Isolierung des Di-Fruktose-Anhydrid-Acetates I geführt hatten, durch. Hierzu brauchte ich, was eine große Erleichterung war, die Inulin-Hydrolyse garnicht erst vorzunehmen, da mir Herr Professor W. Schoeller von der Schering-Kahlbaum A.-G. in dankenswerter Weise Rückstände des technischen Inulin-Hydrolysates in genügender Menge zur Verfügung stellte. Ich verarbeitete sie nach dem von Jackson beschriebenen Verfahren, an einer Stelle mit einer kleinen Modifizierung, die ich im Versuchsteil beschreibe, und gelangte zu dem Acetat I. Es weist die von Jackson beschriebenen Eigenschaften auf, kristallisierte in den charakteristischen Nadeln und ließ sich auch zu dem Di-Fruktose-Anhydrid von Jackson verseifen, das ich, wie er, in schönen Kristallen isolierte und durch die angegebenen Konstanten identifizierte.

Bei der Verarbeitung meines aus der Enzym-Hydrolyse gewonnenen Sirups erhielt ich nun aber ein kristallisierendes Acetat, welches schon durch die Kristallform von dem Jackson'schen Acetat I scharf verschieden war. Während das letztere in Nadeln kristallisierte, zeigte mein Acetat schön ausgebildete rhomboidische Tafeln. Auch in der spezifischen Drehung weicht es um 25° von dem Jackson'schen Acetat ab. Die Elementar-Analyse meines Acetates stimmte auf ein entsprechendes Acetat. Die nach der Methode von Rast in Kampfer ausgeführte Molekulargewichts-Bestimmung ergab für das Jackson'sche Acetat gute Werte. Im Falle meines Acetates fielen die Molekulargewichts-Bestimmungen zu niedrig aus. Genauere Untersuchungen müssen ergründen, um welchen Körper es sich hier gehandelt hat.

Das Hauptergebnis des zweiten Teiles meiner Arbeit ist also, daß auch bei der fermentativen Spaltung des Inulins durch das Pilzferment ein refraktärer Rückstand etwa im Ausmaße von 8% zurückbleibt, für dessen nähere Charakterisierung ich die Vorarbeit geleistet habe.

Versuchsteil.

I.

a) Molekulargewichts-Bestimmungen von Inulin in Acetamid und Formamid.

Bestimmung in Acetamid.

Das Acetamid wurde aus Methylalkohol und Aether umkristallisiert und bei 78° im Vakuum getrocknet; das Inulin („High Purity", Detroit: $[\alpha]_D = -37{,}5°$) wurde bei 78° im Vakuum über Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Substanz	Acetamid	Konzentr.	Depress.	Mol.-Gew.
0,1026 g	14,73 g	0,70%	0,040°	632

Bestimmung in Formamid.

Das Formamid wurde im Hochvakuum bis zum konstanten Siedepunkt fraktioniert, es zeigte aber noch schwach saure Reaktion. Inulin-Präparat 2, gereinigt nach Irvine und Steele: $[\alpha]_D = -35{,}6°$ in Wasser, $-28{,}5°$ in 0,5%iger Lösung in Formamid. 20 Minuten über Kalistangen bei 69° im Vakuum getrocknet. Das durch Fällen mit Aceton wieder ausgefällte Inulan gab in Wasser $-34{,}4°$.

	Formamid.	Lösung von Inulin 1,120%:
Badtemperatur	$-13°$	$-13°$
Dauer des Anstiegs	$1^1/_4$ Min.	$1-1^1/_4$ Min.
Ablesung	4,106°—4,110° (8 mal)	4,048°—4,059° (12 mal)
	Mittel 4,109°	Mittel 4,052°
Streuung	+0,001°—0,003°	+0,007°—0,004°
Unterkühlung (Ablesung)	3,770°—3,830°	3,700°—3,795°
Depression		0,052°
Molekulargewicht		668, ber. 648

Eine zweite Bestimmung gab 684

b) Molekulargewichts-Bestimmung von Inulin-Acetat in Eisessig.

Als Inulin-Acetat verwandte ich das Präparat, dessen Kristallbeschreibung im theoretischen Teil angegeben ist.

Inulin-Acetat: $[\alpha]_D^{20} = -40{,}7^0$ in Eisessig, vielfach aus Methylalkohol umgelöst und über P_2O_5 15 Min. bei 69° im Vakuum getrocknet.

	Eisessig:	Lösung von Inulin-Acetat 0,807%:
Badtemperatur	8°	8°
Dauer des Anstiegs	90 sec.	90 sec.
Ablesung	2,857°—2,865° (8 mal)	2,808°—2,812° (8 mal)
	Mittel 2,862°	Mittel 2,809°
Streuung	+0,004°—0,004°	+0,004°—0,001°
Unterkühlung (Ablesung)	2,730°—2,770°	2,530°—2,620°
Depression		0,053°
Molekulargewicht		594, ber. 576

II.

Säure-Hydrolyse von Inulin.

1. 0,994 g lufttrockenes Inulin von Kahlbaum wurden in 50 ccm 0,05n-. H_2SO_4 10 Min. gekocht und die Lösung nach dem Abkühlen und nach dem Neutralisieren gegen Lackmus mit Natronlauge auf 100 ccm aufgefüllt.

Nach Bertrand: 2 ccm = 16,2, 17,2 mg Zucker; nach Willstaetter: 10 ccm = 7,56, 8,21 mg Aldose; entsprechend 84% nach Bertrand, 7,93% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 9,4.

2. 0,611 g desselben Inulins wurden in derselben Weise hydrolysiert und die Lösung nach dem Abkühlen und Neutralisieren auf 250 ccm aufgefüllt.

Nach Bertrand: 10 ccm = 21,03, 21,53 mg Zucker; nach Willstaetter: 25 ccm = 4,1, 4,1 mg Aldose; entsprechend 87% nach Bertrand, 6,73% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 7,7.

3. 0,5058 g nach Irvine und Steele gereinigtes Kahlbaumsches Inulin, 15 Min. im Vakuum bei 78° über P_2O_5 getrocknet, wurden in derselben Weise hydrolysiert und nach dem Abkühlen und Neutralisieren auf 250 ccm aufgefüllt.

Nach Bertrand: 25 ccm = 46,1, 44,9, 44,6 mg Zucker; nach Willstaetter: 50 ccm = 5,25, 6,8, 6,8 mg Aldose; entsprechend 80,3% nach Bertrand, 5,62% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 7,0.

Bestimmung des Jod-Fehlers der Fruktose.

1. Fruktose von Kahlbaum, etwa 1%ige Lösung.

Nach Bertrand: 10 ccm = 93,6 mg Zucker; nach Willstaetter: wurden gebraucht für je 10 ccm 0,25 ccm bis 0,43 ccm, im Durchschnitt 0,335 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$, entsprechend 3 mg Zucker oder 3,2 $\pm$ 0,8%.

2. Dieselbe Fruktose, aus Alkohol umkristallisiert, etwa 1%ige Lösung.

Nach Bertrand: 10 ccm = 90 mg Zucker; nach Willstaetter: wurden gebraucht für je 10 ccm 0,25—0,32 ccm, im Durchschnitt 0,28 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$, entsprechend 2,5 mg Zucker oder 2,8 $\pm$ 0,3%.

3. Ich stellte eine etwa 1%ige Zucker-Lösung her, die 94,8% Fruktose und 5,2% Glukose enthielt. Bei einem Jod-Fehler der Fruktose von 2,8% hätte die Titration 8% geben müssen.

Nach Bertrand: 10 ccm = 95,6 mg Zucker; nach Willstaetter: 10 ccm = 7,67 mg Glukose; also gefunden: 8,02% Aldose.

Ferment-Versuche.

Zur Gewinnung des Fermentes züchtete ich die Mycelien des Aspergillus niger in Reinkultur auf einer Rohrzucker-Mineralsalz-Nährlösung, extrahierte den mit Sand zerriebenen Pilz darauf mit Citrat-Puffer von p_H 3,8 und dialysierte in Fischblasen und im letzten Falle in einer Cellophan-Düte bis zum Verschwinden reduzierender Beimengungen.

1. Der Pilz wurde während 14 Tage in 14 Erlenmeyer-Kolben herangezüchtet. Die Dauer der Extraktion des Fermentes betrug 2 Tage und die Dialyse 1 Tag. Die Ferment-Hydrolyse ging bei 37° in 21 Tagen vor sich.

Es wurden zusammengestellt:

1. 80 ccm Ferment, 5 ccm Pufferlösung p_H 3,8, 15 ccm 4%ige Inulin-Lösung (von Kahlbaum lufttrocken 617 mg/15 ccm).

2. Desgleichen, aber 15 ccm Wasser statt Inulin-Lösung. Lösung I nach Bertrand: 10 ccm = 53,1, 52,8 mg Zucker. Lösung II (nach Bertrand 20 ccm = 0,62 ccm 0,1-n. $KMnO_4$) bei der Rechnung abgezogen.

Lösung I (nach Willstaetter: 20 ccm) es wurden verbraucht 0,46, 0,45 ccm, im Durchschnitt 0,455 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$, entsprechend 3,95 mg Aldose.

Gef. 92% nach Bertrand, 3,3% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 3,6.

2. Der Pilz wurde während 14 Tage in 6 Erlenmeyer-Kolben herangezüchtet. Extraktion: 3 Tage, Dialyse: 1 Tag, Dauer der Hydrolyse bei 37°: 6 Tage.

Zusammengestellt:

1. 20 ccm Ferment, 5 ccm Wasser, 5 ccm Puffer p_H 3,8, 20 ccm einer Lösung 0,4065 g lufttrockenes Inulin von der Digestive Ferments Co., Detroit, in 20 ccm.

2. Zur Kontrolle desgleichen.

3. Dasselbe, aber 20 ccm Wasser statt Inulin-Lösung.

4. Dasselbe, aber 20 ccm Wasser statt Ferment-Lösung.

Nach Bertrand: 20 ccm verbrauchten 1. 22,79 ccm, 2. 22,87 ccm, 3. 0,95 ccm, 4. 1,18 ccm 0,1-n. $KMnO_4$. Lösung 3 bei der Rechnung abgezogen. Durchschnitt von 1 und 2 entspricht 136,5 mg Cu oder 74,5 mg Zucker.

Nach Willstaetter: 20 ccm verbrauchten 1. 2,06 ccm, 2. 2,13 ccm, 3. 1,63 ccm, 4. 0,59 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$. Lösungen 3 und 4 bei der Rechnung abgezogen. Durchschnitt von 1 und 2 entspricht 4,3 mg Aldose in 20 ccm oder 2,15 mg in 10 ccm.

Gef. 91,6% nach Bertrand, 2,7% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 3.

3. Der Pilz wurde während 21 Tage in 13 Erlenmeyer-Kolben herangezüchtet. Extraktion: 1 Tag, Dialyse: 1 Tag, Dauer der Hydrlyse: 15 und 59 Tage.

1. 25 ccm einer Lösung von 3,334 g im Vakuum über P_2O_5 getrocknetes, nach Irvine und Steele gereinigtes Inulin pro 100 ccm, 50 ccm Ferment-Lösung, 10 ccm Puffer p_H 3,8, 15 ccm Wasser.

2. Dasselbe, aber 50 ccm Wasser statt Ferment-Lösung.

3. Dasselbe, aber 25 ccm Wasser statt Inulin-Lösung. Die

Mischungen wurden zur Kontrolle je 2 mal zusammengestellt, der erste Satz nach 15 Tagen titriert, der zweite nach 59 Tagen.

a) nach 15 Tagen: nach Bertrand: 5 ccm verbrauchten 1. 12,42 ccm, 2. 0,60 ccm, 3. 0,40 ccm 0,1-n. $KMnO_4$. Lösung 3 bei der Rechnung abgezogen. Der Wert entspricht 38,6 mg Zucker in 5 ccm; nach Willstaetter: 10 ccm verbrauchten 1. 2,11 ccm, 2. 0,27 ccm, 3. 1,62 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$. 2 und 3 bei der Rechnung abgezogen, der Wert entspricht 1,96 mg Aldose in 10 ccm; entsprechend 84% nach Bertrand, 2,1% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 2,5.

b) nach 59 Tagen: nach Bertrand: 5 ccm verbrauchten 1. 12,39 ccm, 2. 2,70 ccm, 3. 0,69 ccm 0,1-n. $KMnO_4$. Lösung 3 bei der Rechnung abgezogen. Der Wert entspricht 37,8 mg Zucker in 5 ccm; nach Willstaetter: 10 ccm verbrauchten 1. 2,29 ccm, 2. 0,55 ccm, 3. 1,62 ccm 0,1-n. $Na_2S_2O_3$. Lösungen 2 und 3 bei der Rechnung abgezogen. Der Wert entspricht 1,07 mg Aldose in 10 ccm; entsprechend 82% nach Bertrand, 1,15% nach Willstaetter. Cu : J = 100 : 1,4.

Bei einem Versuch mit Taka-Diastase erreichten wir bisher nur 11%ige Spaltung des Inulins.

Dahlien-Inulinase.

Zuerst wurden einige ungetriebene Dahlien mit ganz negativem Ergebnis auf das Ferment untersucht. Andere waren in Töpfen mit guter Erde im Treibhaus aufgestellt, dessen Temperatur 25° betrug. Für gute Bewässerung wurde Sorge getragen. Nach dem Austreiben wurden die von Haut und Wurzelfasern befreiten Dahlienknollen grob gewogen, mit einem Reibeisen zerrieben und entweder direkt oder nach dem Härten durch Alkohol oder Aceton mit Glycerin extrahiert, und ein Teil des Saftes durch Abnutschen der dicken Masse fast klar gewonnen. Diesen dialysierte ich 2 Tage.

Einen Teil der Dialysate stellte ich in den Brutraum. Ich habe die Reduktion nach Bertrand von 10 bezw. 20 ccm der Dialysate vor und auch nach dem Stehen im Brutraum bestimmt. Zur ungefähren Bestimmung des Inulins in den Dialysaten habe ich 10 bezw. 20 ccm mit verdünntem HCl gekocht und die hierbei eintretende Zunahme der Reduktion von Fehling'scher Lösung be-

stimmt. In einem Parallelversuch zu I habe ich einen Teil der zerriebenen Knollen mit Alkohol bezw. Aceton gehärtet, gemahlen und mit 85% Glycerin extrahiert. Der Saft wurde bei 250 Atm. ausgepreßt; es gelang aber weder durch Filtrieren noch durch Centrifugieren von suspensierten Inulin-Resten zu klären. In diesem Falle ließ sich nach der Dialyse die Anwesenheit von Inulinase im Preß-Saft nicht nachweisen. Die Zahlen sind in ccm n/10 $KMnO_4$ ausgedrückt, von welchem 3,08 ccm 10 mg Zucker nach Bertrand entspricht.

1. Dahlien ins Treibhaus gestellt am 17. Nov. 1930. Am 3. Dez. (16 Tage) waren sie 4 bis 8 Zoll hoch. Zwei Knollen wogen 650 g. 100 g davon wurden mit 100 ccm Glycerin extrahiert, 50 ccm des Saftes wurden 2 Tage dialysiert, wonach das Volumen 140 ccm war.

10 ccm des Dialysats gebrauchten 0,90 ccm n/10 $KMnO_4$
10 „ „ „ nach 45 Std.
bei 37° 1,37 „ „ „
10 „ „ „ nach Kochen
mit verd. HCl 12,96 „ „ „
entsprechend 0,36% Inulin.

2. Am 5. Jan. (60 Tage) waren die Dahlien 16 bezw. 36 Zoll hoch. Zwei Knollen wogen 500 g. 500 g davon wurden mit 250 ccm Glycerin extrahiert. 50 ccm wurden zwei Tage dialysiert, wonach das Volumen 200 ccm war.

10 ccm des Dialysats gebrauchten 0,35 ccm n/10 $KMnO_4$
10 „ „ „ nach 12 Std.
bei 37° 0,48 „ „ „
10 „ „ „ nach Kochen
mit verd. HCl 10,82 „ „ „
entsprechend 0,30% Inulin.

3. Dahlien eingepflanzt am 21. Dez. 1930. Am 23. Jan. 1931 (30 Tage) waren sie 6 bis 10 Zoll hoch. Zwei Knollen wogen 500 g. Sie wurden mit 250 ccm Glycerin extrahiert. 50 ccm wurden zwei Tage dialysiert, wonach das Volumen 120 ccm war.

20 ccm des Dialysats gebrauchten 1,50 ccm n/10 $KMnO_4$
20 „ „ „ nach 48 Std.
bei 37° 1,88 „ „ „
20 „ „ „ nach Kochen
mit verd. HCl 32,65 „ „ „
entsprechend 0,50% Inulin.

Zusammenfassend war also in allen Fällen mehr Inulin im Fermentsaft vorhanden, als gespalten wurde. Davon wurde nur ein geringer Teil gespalten und zwar:

Bei Dahlien von	wurden in 10 ccm Zucker gebildet		Spaltung
4—8 Zoll	ca. 1,55 mg	=	3,9%
6—10 „	„ 0,63 „	=	1,1%
16—36 „	„ 0,43 „	=	1,3%

Gewinnung des Difruktose-Anhydrid-Acetates I nach Jackson.

Ich gewann das Präparat in verschiedenen Versuchsreihen, zuerst genau nach den Vorschriften von Jackson und nachher mit der nach meiner Meinung praktischen, wenn auch prinzipiell nicht wesentlichen Modifikation, daß ich die Entfernung der Fruktose aus dem Hydrolysat nicht zuerst in Gestalt des Kalzium-Fruktosates vornahm und nachher den Rest mit Hefe weggor, sondern indem ich unter Ueberspringung der Kalziumfällung gleich zur Hefegärung schritt. 200 g der mir zur Verfügung gestellten Inulin-Melasse mit 55% Fruktose wurden auf einen Liter aufgefüllt und unter Zusatz von Bäckerhefe bei 30° während zwei Tagen vergoren. Dann wurde die Hefe über Kieselgur abfiltriert, die Lösung mit Tierkohle entfärbt, darauf bis zum dicken Sirup im Vakuum abgedämpft und endlich zur Entfernung der Hefeprodukte 300 ccm Alkohol zugesetzt. Das von diesen befreite Filtrat wurde wieder zum dicken Sirup eingedämpft und unter Zusatz von 35 g Essigsäure-Anhydrid und 17 g Pyridin zuerst 10 Minuten bei 70° und dann über Nacht bei Zimmertemperatur acetyliert. Darauf goß ich in 2 Liter Eiswasser, wusch das ölig ausfallende Acetat zuerst unter Dekantieren mit Wasser, verdünnter Bicarbonat-Lösung und wieder mit Wasser und löste in etwa 200 ccm heißem Alkohol auf. Nach dem Klären mit Tierkohle kristallisierte das Acetat beim Stehen aus dem Alkohol und ließ sich durch einmaliges Umkristallisieren rein gewinnen. Die Drehung in Chloroform betrug $+1^0$.

Nach der Verseifung mit wässerigem Barythydrat gewann ich auch den Zucker in der von Jackson angegebenen Kristallform und Drehung von durchschnittlich $+30^0$. Von besonderer Bedeutung war für mich die Feststellung, daß dieses Difruktose-

Anhydrid auch durch das energischste Pilzferment nicht gespalten wurde.

Gewinnung des Acetates aus dem Rückstand der Fermenthydrolyse.

Ich verwandte 200 ccm eines dialysierten Pilz-Inulinase-Fermentes, das auf 10 Liter Nährlösung herangezogen war, und das ich vor der Extraktion mit der Pufferlösung durch hydraulisches Pressen, Aufschwemmen mit Wasser und wieder hydraulisches Pressen von den zuckerhaltigen Resten der Nährlösung befreite. Diese brachte ich auf 15 g Inulin zum Ansatz und stellte schon nach 24 Stunden eine etwa 90%ige Hydrolyse fest, welche sich nach weiteren 20 Stunden nicht vermehrte. In den 1 500 ccm meines Ferment-Ansatzes waren 70 ccm Zitrat-Salzsäure-Puffer vorhanden. Um die Salzsäure und die Hauptmenge der Zitronensäure zu entfernen, verdampfte ich nach der Fermentation auf 150 ccm, vergor dann mit Hefe und schüttelte darauf mit Silbercarbonat. Dann wurde filtriert, mit Essigsäure neutralisiert, Schwefelwasserstoff eingeleitet, schließlich zum Sirup eingeengt und in der früher angegebenen Weise bis zur Gewinnung des Acetates verarbeitet. Von diesem erhielt ich $^1/_2$ g, das nach dem Umkristallisieren bei 121,5 ° zu sintern begann und bei 122 ° geschmolzen war.

3,857 mg Substanz
7,060 „ CO_2
2,055 „ H_2O

ber.: C 50,0 H 5,55%
gef.: C 49,9 H 5,92%

$[\alpha]_D^{20} = (1 \times 0{,}48\,^0) : (1 \times 0{,}0192) = +25{,}0\,^0$ (Chloroform);
ein weiterer Wert: $+25{,}5\,^0$.

Molekulargewichts-Bestimmungen in Kampfer:

Neues Acetat: 0,0146 g
in 0,1540 g Kampfer,
Acetat von Jackson: 0,0147 g
in 0,1601 g Kampfer.

Die durchschnittliche Depression war im ersten Falle beim neuen Acetat 7,92 ° und beim Jackson-Acetat 6,91 °, woraus sich

M 479 respektive 532, Theorie 576

berechnet.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1929 bis Februar 1931 im Chemischen Institut der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin ausgeführt.

Es sei mir erlaubt, auch an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Hans Pringsheim für seine liebenswürdige und äußerst wertvolle Unterstützung und Förderung bei meinen Arbeiten meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich wurde am 1. Oktober 1907 in Philadelphia, Pennsylvania, U. S. A. als Sohn des Maschinen-Ingenieurs Walter Hensel geboren und bin Amerikanischer Staatsangehöriger.

Vom September 1914 bis Februar 1920 besuchte ich die Collins Tract Grammar School in Merchantville, New Jersey. Von Februar 1920 bis Juni 1924 besuchte ich die Camden High School in Camden, New Jersey und absolvierte dort den sogenannten Technical Course. Von September 1924 bis Juni 1928 habe ich in der Towne Scientific School der University of Pennsylvania in Philadelphia studiert, wodurch ich den Grad von Bachelor of Science in Chemical Engineering im Juni 1928 erworben habe. Von September 1928 bis September 1929 wurde ich angestellt als Betriebs-Ingenieur in der Abteilung für technische Kontrolle und Betriebsverbesserung der Kohlenelektroden-Fabrik der Aluminium Company of America in Massena, New York. Von Oktober 1929 bis Februar 1931 habe ich im Chemischen Institut der Universität Berlin gemeinsam mit Herrn Professor Dr Hans Pringsheim gearbeitet. Von September 1931 bis Januar 1932 habe ich im Chemischen Institut des Kaiser Wilhelm-Instituts in Dahlem unter Anleitung von Herrn Professor Kurt Hess gearbeitet.

Ich bin Mitglied der Deutschen Chemischen Gesellschaft, der American Chemical Society, der Franklin Institute in Philadelphia, der Tau Beta Pi Engineering Fraternity und der Alpha Chi Sigma Chemical Fraternity.